FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1919 — N° —

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

M. Raoul FOUIN
Né le 14 Septembre 1888, à Paris

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES
PEROXYDASES LEUCOCYTAIRES
L'INDICE HÉMATIMÉTRIQUE DES PEROXYDASES

Président : M. le Professeur Albert ROBIN

PARIS
LIBRAIRIE PICART-TRICOT, ÉDITEURS
59, BOULEVARD SAINT-MICHEL (V^e^)

1919

LE DOYEN . M. ROGER.

PROFESSEURS : MM.

Anatomie	NICOLAS.
Anatomie médico-chirurgicale	N...
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	WEISS.
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	BEZANÇON.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	N...
Pathologie et thérapeutique générales	VAQUEZ.
Pathologie médicale	N...
Pathologie chirurgicale	N...
Anatomie pathologique	LETULLE.
Histologie	PRENANT
Opérations et appareils	N...
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET.
Thérapeutique	CARNOT.
Hygiène	N...
Médecine légale	N...
Histoire de la médecine et de la chirurgie	N...
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER.
Clinique médicale	ACHARD. WIDAL. GILBERT. CHAUFFARD.
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants	HUTINEL.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	DUPRÉ.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux	P. MARIE.
Clinique des maladies contagieuses	TISSIER.
Clinique chirurgicale	DELBET. QUENU. LEJARS. HARTMANN.
Clinique ophtalmologique	De LAPERSONNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	BAR. COUVELAIRE. RIBEMONT-DESSAIGNE.
Clinique gynécologique	N...
Clinique chirurgicale infantile	BROCA.
Clinique thérapeutique	A. ROBIN.

AGRÉGÉS EN MÉDECINE :

MM.	MM.	MM.	MM.
ALGLAVE	GUILLAIN	LÉRI	RIBIERRE
BERNARD	JEANNIN	LOEPER	RICHAUD
BRANCA	JOUSSET (André)	MAILLARD	ROUSSY
BRUMPT	LABBE (Henri)	MOCQUOT	ROUVIERE
CAMUS	LAIGNEL-LAVASTINE	MULON	SCHWARTZ (Anselme)
CASTAIGNE	LANGLOIS	NICLOUX	SICARD
CHAMPY	LECENE	NOBECOURT	TANON
CHEVASSU	LEMIERRE	OKINCZYC	TERRIEN
DESMAREST	LENORMANT	OMBREDANNE	TIFFENEAU
GOUGEROT	LEQUEUX	RATHERY	VILLARET
GREGOIRE	LEREBOULLET	RETTERER	ZIMMERN
GUENIOT			

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MES ANCIENS MAITRES
de Saint-Nicolas du Chardonnet et de l'École Massillon

A MES MAITRES
de la Faculté de Médecine de Paris

A MONSIEUR LE DOCTEUR NOEL FIESSINGER
Ancien chef de clinique de la Faculté de Médecine de Paris

A MONSIEUR LE DOCTEUR ŒTTINGER
Médecin des Hôpitaux

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ALBERT ROBIN

de l'Académie de Médecine
Grand Officier de la Légion d'honneur

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

PEROXYDASES LEUCOCYTAIRES

L'INDICE HÉMATIMÉTRIQUE DES PEROXYDASES

I. — HISTORIQUE

On est encore bien incomplètement fixé sur le métabolisme de l'oxygène dans l'organisme. La connaissance de ce fait qu'il est l'agent indispensable aux combustions vitales a déjà souligné depuis quelque temps l'importance fondamentale de son rôle. L'étude des ferments oxydants vient d'apporter récemment un peu de lumière sur cette question, et montre la complexité des procédés dont se servent les cellules pour utiliser cet oxygène.

Que ce gaz soit l'agent important des combustions vitales est une notion qui remonte à Lavoisier. Beaucoup plus ancienne au contraire nous paraît être cette idée que toute la Vie se ramène à des actes de combustion. Avant même que l'on ait tenté l'analyse approfondie des phénomènes intimes de la Vie, les vieux sages d'autrefois avaient déjà cette intuition qu'il existe plus qu'une simple analogie entre la Vie et le Feu. Certes ils n'en étaient pas encore à comparer l'être humain à une machine qui reçoit du carbone sous forme d'aliments et qui le brûle en produisant du travail et de la chaleur. Et cependant, peut-être bien que leurs idées ou leurs rêves leur eussent permis cette métaphore, sans qu'ils aient su jusqu'à quel point c'était là une réalité.

Dans la littérature ancienne, on trouve partout des traces de cette pensée instinctive et profonde : « Le Feu fut toujours regardé comme la source ou tout au moins comme le symbole de la Vie. » N'est-ce pas là le fond même de la philosophie d'Héraclite? N'est-ce pas aussi de cette croyance que naquit jadis la légende de Prométhée? Et le héros antique, enchaîné au Caucase, n'avait-il pas, dit-on, ravi le Feu au Ciel pour donner de la Vie à sa statue d'argile?

A la fin du XVIIIe siècle, l'étude des rapports entre la Vie et le Feu quitta le domaine de l'imagination et de la poésie pour se préciser davantage. La découverte par Lavoisier de l'oxygène et de son rôle dans les combustions, celle des propriétés fixatrices de l'hémoglobine pour ce gaz firent entrevoir son importance vitale d'une façon plus scientifique. Et l'on sut bientôt calculer combien en brûlant du carbone au moyen de leur oxygène les animaux et les plantes dégageaient de calories.

Depuis Claude Bernard, cette question s'est encore éclaircie. On a soupçonné d'abord, puis découvert dans beaucoup de protoplasmas animaux et végétaux un très grand nombre d'éléments, de la nature des ferments, capables de fixer l'oxygène de l'air sur ces protoplasmas.

Ces ferments, on les a appelés des *oxydases*.

Ce fut le professeur Bertrand qui, en 1895, montra le premier que le noircissement du latex de l'arbre à laque était dû à un ferment de ce genre, la *laccase*. Bien des auteurs les ont étudiés depuis ; et l'on mit leur présence en lumière dans les végétaux d'abord, puis chez les animaux. On en trouva dans les plantes, particulièrement dans les *Russules* et dans les *Bolets*, où elles produisent les changements de teinte si caractéristiques de ces champignons au moment où on les brise. Bourquelot, Schoënbein, les observèrent chez les animaux. Portier,

en 1897, montra dans sa Thèse, à la suite des expériences qu'il fit à Roscoff, qu'elles existaient en abondance chez les invertébrés marins. Le professeur Carnot en indiqua la présence dans la salive. Abelous et Biarnès, Enriquez et Sicard, Dastre et Floresco, Cavazani, Schultze, Noël Fiessinger et Rowdowska, d'autres encore, les étudièrent successivement chez les animaux et chez l'homme.

Enfin il est intéressant de rapprocher des oxydases végétales et animales le grand nombre de ferments métalliques, si utilisés actuellement, qui semblent engendrer eux aussi des actes d'oxydation, et dont nous devons l'étude et l'expérimentation au professeur Albert Robin.

Dans les observations que nous avons entreprises et qui vont faire l'objet de cette Thèse, nous avons laissé de côté l'étude de ces oxydases pour nous occuper uniquement d'un groupe de ferments voisins. Ceux-ci, oxydases indirectes, que Linossier a appelés les *peroxydases* et Bourquelot les *anaéroxydases*, ont été mis en lumière par la réaction de Weber. Inaptes à fixer l'oxygène de l'air comme le fixaient les précédents, ces ferments sont capables de produire l'acte d'oxydation à condition de se trouver en présence d'une substance intermédiaire riche en oxygène, comme, par exemple, l'eau oxygénée.

A côté de ces ferments, il faut réserver une place à certaines substances qui par leur constitution chimique sont capables d'exercer une action catalytique : les sels de fer et de manganèse entrent dans ce groupe. Aussi trouvons-nous dans le sang deux types d'éléments peroxydants; certains ne semblent agir qu'en présence de quantités notables d'eau oxygénée et en présence d'acide acétique : les globules rouges possèdent des éléments

de ce genre-là ; d'autres au contraire, n'agissent qu'en présence de traces du même réactif oxydant, en milieu neutre et sans acide acétique : ce sont les globules blancs qui en sont pourvus. L'action de ceux-ci est plus délicate et elle se produit plus rapidement que l'action de ceux-là. Noël Fiessinger et Rowdowska distinguent ainsi des degrés dans ce qu'ils appellent la puissance catalytique. « Les éléments du sang, disent-ils, se divisent en deux espèces d'éléments nettement distincts : des éléments à puissance catalytique faible : ce sont les hématies, qui agissent plus par leur constitution ferrugineuse que par une véritable oxydase ; et des éléments à puissance catalytique forte : ce sont les leucocytes, qui agissent à l'aide d'une oxydase-ferment. Les premiers ne peuvent manifester leur présence que si l'eau oxygénée est très concentrée ; les seconds bleuissent la benzidine avec des solutions très diluées, au point que les hématies se teintent à peine. »

Certains auteurs n'ont pas voulu voir de différence essentielle entre les oxydases et les peroxydases. On a prétendu que la conception de deux catégories différentes d'oxydases n'est que le résultat d'observations incomplètes (Wolf, Sarthou). Ce serait les mêmes éléments — ou la même force, puisqu'il n'est point établi que les ferments soient des substances — qui dans les protoplasmas vivants seraient capables de produire les deux sortes de réaction — fixation d'oxygène atmosphérique, fixation de l'oxygène des peroxydes — suivant les circonstances et l'état des milieux où elles agissent. Pourquoi n'admettrait-on pas aussi bien que toutes les fermentations quelles qu'elles soient, catalytiques, oxydantes, peroxydantes ou autres ne sont que des réponses différentes d'un agent unique ou d'une force unique aux excitations extérieures qui les provoquent et qui en

conditionnent la variété? En l'absence de preuves, nous considérons que ce sont là des groupes d'enzymes ayant chacune leurs propriétés particulières, les unes, les catalases, aptes seulement à détruire, n'agissant sur l'eau oxygénée et autres peroxydes facilement dédoublables, que pour mettre en liberté une molécule d'oxygène, sans avoir la puissance de fixer celle-ci sur aucun corps voisin; les autres, les oxydases indirectes, ayant à la fois un pouvoir catalytique et un pouvoir de fixation, ne détruisant que pour reconstruire différemment, et capables après avoir dédoublé un peroxyde, d'opérer le transfert de la molécule d'oxygène de ce peroxyde dissociable jusqu'à un corps dit « accepteur » — d'autres enfin, les oxydases directes, n'ayant plus qu'un pouvoir de fixation et aptes seulement à saisir la molécule d'oxygène libre pour la donner au corps qui l'utilisera.

Les oxydases indirectes se rencontrent dans tous les protoplasmas vivants. Le professeur Bertrand les a étudiés dans les plantes et a montré leur existence dans beaucoup de tissus végétaux (graines de maïs, graines de courge, etc.), où leur abondance serait en rapport avec l'intensité de croissance de ces tissus.

Chez les animaux et chez l'homme, on a depuis longtemps observé ces ferments. Battelli et Stern les ont notés dans le foie et dans les tissus glandulaires. Portier, Noël Fiessinger et Rowdowska les ont découverts et étudiés dans les leucocytes du pus et du sang. Fishel, en 1910, les avait remarqués dans certains tissus, en employant comme réactif la solution alcoolique de benzidine additionnée d'une faible quantité d'eau oxygénée. Les résultats d'ailleurs paraissent en désaccord avec les observations ultérieures puisqu'il dit avoir observé des peroxydases non seulement dans les noyaux et le cytoplasma de cellules parenchymateuses variées, mais même

dans le cytoplasma des lymphocytes. D'autres auteurs allemands, Kreibish, Lœle, avec des techniques un peu différentes, étudièrent aussi les peroxydases des tissus. En Italie, le professeur Rubino rapportait en 1915, dans un article de la *Reforma Medica*, le résultat de ses observations personnelles sur « quelques caractères morphologiques, structuraux et fonctionnels des éléments figurés du sang ». Nous aurons l'occasion de revenir sur leurs travaux. Quant à nous, nous ne nous occuperons pas ici des peroxydes contenues dans les protoplasmas végétaux, non plus que de celles contenues dans la plupart des tissus animaux. Nous essayerons seulement de définir où en est actuellement la question des peroxydases leucocytaires.

II. — LES PEROXYDASES DANS LE SANG APERÇU GÉNÉRAL ET TECHNIQUES EMPLOYÉES

Bien des réactions ont été employées pour mettre en lumière l'existence des peroxydases dans le sang. Les différents auteurs ont préconisé chacun une technique particulière d'étude pour arriver à des observations similaires. Presque toutes ces réactions utilisent l'eau oxygénée ou plus rarement l'essence térébenthine oxygénée. Nous verrons successivement les techniques employées aussi bien pour les études macroscopiques que microscopiques.

A. — **Techniques macroscopiques.**

La plus ancienne en date est la réaction de Weber. Elle est très connue : une pincée de résine de gaïac dissoute dans trois ou quatre centimètres cubes d'alcool à 60 degrés, quelques gouttes d'eau oxygénée. Portier s'est adressé à ce réactif. On a de la même façon employé la benzidine (réaction d'Adler) en solution alcoolique. Les deux réactions ont été surtout utilisées pour la recherche du sang dans les matières fécales et les urines. Cette recherche se fait après adjonction de quelques gouttes d'acide acétique [1]. Dans ces conditions, la tein-

---

1. Pour les recherches du sang, la présence de l'acide acétique est nécessaire. Nous verrons qu'elle est inutile pour les réactions d'oxydases leucocytaires. Cette différence technique a une grosse importance et oppose les réactions peroxydantes des globules rouges et des leucocytes.

ture de benzidine ou de gaïac se colore en bleu en présence d'eau oxygénée.

Bourquelot, puis MM. Marfan, Ménard et Saint-Girons ont employé une solution aqueuse de gaïacol, qui se colorait en rouge grenat sous l'action des peroxydases.

On a utilisé aussi le réactif de Meyer, à base de phénolphtaléine réduite à l'état de phénolphtaline incolore par la limaille de zinc. Il suffit là aussi d'ajouter un peu d'eau oxygénée, pour obtenir une coloration rouge, s'il y a des peroxydases dans les substances examinées.

B. — **Techniques microchimiques.**

On a surtout employé la benzidine. Fishel s'est servi d'une solution alcoolique de benzidine monosulfate de soude. Kreibich, pensant que les résultats incertains de Fishel étaient dus à l'alcalinité de son réactif, exposa une méthode pour le stabiliser en le neutralisant ou en l'acidifiant. La solution employée par lui était une solution aqueuse contenant des traces d'alcool acide, ou une solution aqueuse de benzidine et d'un sel sodique de benzidine en quantités égales.

Noël Fiessinger et Rowdowska ont indiqué en 1912 la technique suivante dans un article des *Archives de Médecine expérimentale* :

« Sur une lame bien étalée, verser une solution à 2 pour 100 dans l'alcool absolu de benzidine pure. On laisse dix minutes en contact et on fait couler la solution que l'on remplace par une solution d'eau oxygénée. Cette eau oxygénée est obtenue en diluant vingt fois l'eau oxygénée « Perhydrol » Merk. Quand le sang étalé se colore en vert pâle, on balaie l'eau oxygénée avec de l'eau distillée, et on sèche rapidement au papier buvard.

On peut faire suivre cette technique d'une coloration très courte dans une safranine faible. » Ces auteurs insistent en même temps sur quelques points particuliers, sur la nécessité d'utiliser une eau oxygénée le moins acide possible, très diluée, et une quantité très faible de benzidine.

Lœle ajoutait un peu de bleu de méthylène à une solution aqueuse de benzidine et d'eau oxygénée à la dose de quelques gouttes.

Le professeur Rubino, de Gênes, emploie la solution de benzidine ou de résine de gaïac dans l'alcool méthylique à 10 pour 100. Il filtre la solution et ajoute au moment de l'examen une goutte d'eau oxygénée ou d'essence térébenthine. « Il se forme un précipité au moment où l'on verse l'eau oxygénée, mais ce précipité se redissout immédiatement. Le réactif qui agit en même temps comme fixateur, doit être maintenu pendant trois minutes sur la préparation de sang frais, séché à l'air. Dans ces conditions, au bout de quelques secondes, le frottis de sang commence à prendre avec la solution de benzidine une coloration verte qui s'intensifie peu à peu, pour passer en l'espace des trois minutes indiquées ci-dessus, au ton indigo puis cuivré. Avec la solution de résine de gaïac, on a une coloration d'abord verte qui tourne progressivement au jaunâtre. Au bout de trois minutes, la préparation se lave d'abord dans l'alcool méthylique pour dissoudre les précipités qui se sont formés, puis dans l'eau courante, et ensuite une fois sèche, on la monte en baume neutre. »

Graham a décrit deux méthodes microchimiques d'examen des peroxydases : la première employait le naphtol α et la pyronine : il mettait son frottis de sang préalablement fixé, en contact pendant cinq minutes avec un mélange d'une solution de naphtol α et de pyro-

nine. Cette opération était suivie d'un lavage à l'eau, puis d'un lavage à l'alcool à 40 degrés, puis d'un second lavage à l'eau, et se terminait enfin par une coloration de fond au bleu de méthylène en solution aqueuse à 1 pour 100. Cette technique fut abandonnée par Graham à cause de la difficulté de se procurer depuis la guerre les réactifs nécessaires, Et il a décrit récemment une seconde technique dont les résultats, dit-il, sont plus nets. La voici, telle qu'elle est exposée par lui dans le numéro de septembre 1918 du *Journal of Medical research* :

« A dix centimètres cubes d'alcool à 40 degrés, on ajoute quelques cristaux de benzidine et deux centièmes de centimètre cube de peroxyde d'hydrogène. La benzidine est très faiblement soluble. On a pris l'habitude d'en utiliser juste la quantité que peut garder l'extrémité de la lame d'un petit couteau. La préparation du réactif peut être simplifiée, en ayant à l'avance dans un flacon une solution d'alcool à 40 degrés contenant la quantité voulue d'eau oxygénée. On ajoute la benzidine par petites fractions chaque fois qu'on veut se servir du réactif.

« Le frottis à colorer doit être aussi frais que possible. Il faut le fixer pendant une minute ou deux dans un mélange composé d'une partie de formol à 40 pour 100 et de neuf parties d'alcool à 95 degrés. Le fixatif doit être fraîchement préparé. Les préparations non fixées donnent la réaction des granulations, mais ne prennent pas bien les teintes. On fait couler un peu d'eau sur le fixatif, et on le remplace par la solution de benzidine. La réaction met cinq à dix minutes à se produire. Cinq suffisent généralement. On lave de nouveau et on colore le fond avec la solution alcaline de bleu de méthylène de Lœffler pendant trente secondes. »

Telles sont les principales techniques indiquées par les auteurs pour mettre en lumière les peroxydases dans le sang.

C. — Signification du phénomène.

On s'est demandé si l'apparition des granulations bleues ainsi observées avec les dernières méthodes, était réellement provoquée par une action fermentative, ou si elle était simplement due à la présence d'un sel de fer dans les granulations protoplasmiques. G. Bertrand a soutenu cette dernière opinion. Elle a été confirmée récemment par les observations du professeur Marinesco sur les cellules des centres nerveux. Cet auteur a trouvé du fer, au moyen de la méthode de Perls dans toutes les cellules nerveuses qui donnaient en même temps des réactions peroxydantes.

D'autres auteurs, comme Bach et Chodat, croient à une action fermentative qui ne peut pas avoir lieu sans la présence de peroxydes. Le professeur Rubino a fait remarquer que les peroxydes ne sont pas nécessaires, et qu'avec la technique employée par lui « les mêmes résultats chromatiques, macroscopiques ou microscopiques s'obtiennent à peu près si, après avoir versé sur la lame où le sang est étalé la teinture de benzidine ou de résine de gaïac, on fait passer dessus pendant le même nombre de minutes, un courant d'oxygène ».

Il est encore difficile de fixer le rôle du fer dans l'action peroxydasique. La sensibilité à la chaleur et aux substances chimiques semble démontrer la nature diastasique du phénomène. Mais on doit reconnaître que les combinasons lipoprotéiques ou lipométalliques des cellules peuvent subir ces influences, si bien que la nature exacte de l'agent catalytique reste encore à l'étude.

III. — LES PEROXYDASES DES LEUCOCYTES DU PUS

C'est P. Portier qui a démontré le premier, en utilisant la réaction de Weber, la présence d'oxydases indirectes dans les leucocytes du pus. Au mois de juillet 1912, MM. Marfan, Ménard et Saint-Girons publiaient à la Société médicale des Hôpitaux, un travail sur les réactions oxydantes indirectes des globules blancs de certaines suppurations et concluaient à l'intérêt pratique de ce qu'ils ont appelé le peroxydo-diagnostic. Ces auteurs avaient remarqué que la réaction de Bourquelot n'était positive que lorsque les globules blancs contenus dans le liquide purulent étaient des polynucléaires. Cela permettait de rendre plus simple et plus rapide le diagnostic des suppurations à polynucléaires, et il suffisait ainsi d'un examen chimique très facile à réaliser pour différencier une méningite cérébro-spinale à méningocoques ou une méninigte pneumococcique d'une méningite tuberculeuse. Après un grand nombre d'examens, ces auteurs en arrivèrent à conclure que le peroxydo-diagnostic avait la même valeur clinique que la constatation microscopique des polynucléaires.

Beaucoup d'autres auteurs ont noté l'existence de peroxydases dans les globules du pus. Rubino en 1915, Noël Fiessinger récemment dans un travail en collaboration avec le professeur Pierre Delbet et René Clogne, sur les plaies de guerre, Graham, etc., en ont publié de nombreuses observations.

Actuellement on peut résumer ainsi ce que l'o sait des peroxydases du pus :

1° La réaction macroscopique est constante. Le pus donne toujours un résultat positif avec le réactif de Weber ou les réactifs similaires.

2° La réaction microchimique est d'autant plus nette que les leucocytes sont moins altérés : on la trouve aisément dans les globules du pus gonococcique, par exemple, ou dans les pus de suppurations aiguës à drainage rapide.

3° Cette réaction microchimique est très difficile à voir dans les suppurations à éléments cytolysés, dans les vieux foyers suppurés, dans les suppurations rénales tuberculeuses ou dans certains abcès du foie, par exemple.

IV. — LES PEROXYDASES DES LEUCOCYTES DU SANG

Parmi les techniques employées pour l'étude des peroxydases, toutes ne se prêtaient pas à des examens microchimiques. La première technique microchimique utilisée à cet égard fut exposée par Noël Fiessinger et Rowdowska, en 1912. Nous l'avons rapportée dans les pages qui précèdent. Après ces auteurs, d'autres ont employé des méthodes analogues, et comme eux, la plupart se sont servis de la benzidine. Nous avons vu la technique du professeur Rubino, et celle de Graham toute récente. Voyons maintenant quel est l'aspect microscopique des réactions obtenues.

Les résultats décrits par les différents auteurs sont sensiblement les mêmes. Noël Fiessinger dit : « Après coloration avec notre technique les leucocytes du sang se divisent en deux catégories : les uns conservent leur aspect normal, ce sont les leucocytes de la série lymphoïde. Les autres se remplissent de fines granulations bleu foncé, ce sont les leucocytes de la série myéloïde. Ces granulations épargnent le noyau qui apparaît en négatif sur le fond granuleux du cytoplasme. Il n'existe jamais de granulations bleues au voisinage des leucocytes, comme celles que l'on peut voir au voisinage des leucocytes avec les réactifs concentrés des oxydases directes. Mais par contre, si le titre de l'eau oxygénée a été élevé il n'est pas rare de trouver des leucocytes qui ont éclaté en projetant leurs granulations dans le territoire avoisinant... La réaction à la benzidine est le

propre des granulations leucocytaires aussi bien neutrophiles que éosinophiles. »

Rubino arrive à des conclusions analogues : il observe des grains de différentes grosseurs dans les leucocytes, mais mentionne leur absence complète dans les lymphocytes.

Graham décrit de la façon suivante les résultats obtenus par sa technique appliquée aux leucocytes du sang :

« Les granulations neutrophiles et éosinophiles prennent une coloration d'un brun chaud. Celles des neutrophiles sont petites, irrégulièrement rondes, assez variables dans leur dimension, et on les voit se rassembler souvent par petites bandes de deux ou trois. Les granulations éosinophiles sont de large dimension, rondes ou ellyptiques et leur réfringence est caractéristique. Les granulations brunes se localisent surtout sous la membrane d'enveloppe et délimitent une substance centrale relativement incolore.

« Tout porte à croire que les granulations basophiles ne réagissent pas dans le plus grand nombre des cas, bien que l'on ait observé de rares exemples où les cellules de ce groupe ont montré quelques granulations éparses d'une couleur brun verdâtre intense, entièrement différentes de celles trouvées dans les cellules précédemment décrites. Ces granulations ont une grosseur variable, mais sont souvent aussi larges que celles du genre éosinophiles. Le cytoplasme de ces cellules se colore faiblement en totalité ou en partie d'une teinte rouge pourpre, et l'on y trouve quelques vacuoles. Les grands mononucléaires ont souvent quelques granulations peu nettement délimitées qui donnent une réaction peroxydasique positive. Les noyaux des leucocytes sont bleu sombre tandis que ceux des lymphocytes ont une légère teinte pourpre. Les érythrocytes sont jaune verdâtre ou bleu verdâtre.

La couleur est due à la coloration de fond. Ces cellules ne changent pas de couleur sous l'action de la benzidine à moins que le réactif n'agisse une demi-heure ou davantage : en ce cas elles prennent peu à peu une tonalité brune. Ainsi colorées elles perdent beaucoup de leur affinité pour la coloration de fond. Les plaquettes sont bleues. »

Graham fait observer qu'avec les méthodes précédemment employées, les granulations obtenues avaient une teinte généralement bleue ou verte, tandis qu'avec la technique décrite par lui les granulations sont d'abord bleu verdâtre puis tournent vite au brun. Il a noté aussi que les noyaux des polynucléaires se teintent légèrement en vert, mais que cette teinte est masquée par celle, beaucoup plus accentuée, des granulations. Enfin, il fait observer que toutes les cellules d'un même groupe n'ont pas toujours des granulations qui se colorent avec une égale intensité, et que cette variation est peut-être en rapport avec des phénomènes morbides.

Tels sont les principaux résultats observés jusqu'ici par les auteurs qui ont employé des méthodes microchimiques d'examen pour l'étude des oxydases indirectes dans les globules blancs du sang.

Il faut noter enfin l'influence défavorisante de certains agents physiques et chimiques sur ces résultats :

1° Le chauffage à 100 degrés pendant une minute ou à 80 degrés pendant trente minutes, ou à 56 degrés pendant vingt-quatre heures empêche la réaction (Noël Fiessinger).

2° L'humidité fait disparaître la réaction au bout de deux heures sur les préparations fixées, et beaucoup plus vite sur les préparations non fixées (Noël Fiessinger).

3° Le sublimé, l'acétone, l'éther, l'acide acétique, tous les acides forts en général, et sans doute un grand

nombre d'autres substances chimiques, font disparaître rapidement l'action peroxydante ou l'empêchent de se produire. Le formol, par contre ne paraît pas avoir d'action défavorable à cet égard.

4° La lumière et le vieillisssement. « Si on expose, dit Graham, à la lumière solaire le ferment de la granulation neutrophile, il se détériore vite. Même protégé contre la lumière, il perd peu à peu ses propriétés oxydantes, si bien qu'après huit ou dix jours la coloration des grains diminue d'intensité, et des points décolorés commencent à apparaître dans les cellules. Les préparations non exposées, vieilles de trois ou quatre semaines peuvent à l'occasion réagir très bien, surtout si on les laisse en présence de la benzidine vingt ou trente minutes. Mais ces observations n'infirment pas la règle générale. Les granulations éosinophiles sont plus résistantes et peuvent réagir vigoureusement alors que toute trace de granulations du genre neutrophile a disparu. »

V. — RÉACTION HÉMATIMÉTRIQUE

Toutes les méthodes microchimiques employées jusqu'ici se sont bornées à l'examen des frottis de sang. Elles n'ont pas permis une numération précise des leucocytes réagissants. M. Noël Fiessinger a eu l'idée de faire des examens à la chambre humide et d'utiliser à cette fin l'hématimètre de Malassez. Nous avons pu pratiquer ainsi sous sa direction un certain nombre d'examens de sang chez des malades et chez des sujets normaux, et compter le nombre des leucocytes qui dans chaque cas donnaient une réaction positive.

Voici en quelques mots la technique que nous avons suivie. Une piqûre à la lancette fait sourdre une goutte de sang au doigt du sujet qu'on veut examiner. Ce sang est aspiré avec la pipette de Malassez jusqu'à la division $\frac{1}{2}$. Aussitôt après on plonge la pipette dans la solution de benzidine et l'on emplit la pipette de cette solution jusqu'à la division 1. Cette solution de benzidine est préparée suivant les indications de Graham : on dissout à chaud une très faible quantité de benzidine dans 10 centimètres cubes d'alcool à 40 degrés ; on ajoute ensuite une goutte d'eau oxygénée et un peu de safranine comme colorant de fond. On laisse refroidir la solution avant de l'utiliser. La pipette doit être agitée constamment pendant qu'on l'emplit, afin d'obtenir un mélange homogène de sang et de solution de benzidine. Le sang se trouve dilué au $\frac{1}{200}$. Avant de déposer une

goutte de ce liquide dans la chambre hématimétrique. il convient de rejeter d'abord sur un linge quelconque les deux premières gouttes qui, retenues dans le tube capillaire, n'ont pas été mélangées au sang.

On place l'hématimètre sous l'objectif 6 du microscope, on attend deux ou trois minutes pour laisser reposer le liquide, et on examine.

Les globules rouges sont dissous et leurs débris sont peu visibles. Par contre on aperçoit aisément les globules blancs : les uns simplement teints par la safranine et ne présentant pas de granulations colorées, les autres bourrés de granulations bleu foncé ou brunes. Ces derniers se détachent très nettement sur les différents carrés de l'hématimètre. Il est facile de les compter.

Le sang étant dilué au $\frac{1}{200}$, on dénombre les leucocytes sur vingt carrés de l'hématimètre. On note ceux qui donnent la réaction peroxydasique et ceux qui ne la donnent pas. Et il suffit de multiplier par 1.000 les chiffres obtenus pour avoir la quantité de leucocytes d'un millimètre cube de sang donnant une réaction positive ou ne la donnant pas.

Pour qu'il soit permis de se fier à la précision des chiffres, il est utile de faire plusieurs examens consécutifs du même mélange et de prendre la moyenne des résultats obtenus.

Voici un certain nombre d'observations dues à cette technique et faites par M. Noël Fiessinger et par nous à l'hôpital Cochin, dans le laboratoire de M. Œttinger.

1° Sujets normaux.

OBSERVATION I, prise le 11 avril 1919.

Nombre de globules blancs donnant une réaction positive 4.500

Nombre de globules blancs ne donnant pas de réaction peroxydasique . . . . N

OBSERVATION II. — Même sujet (22 avril).

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 4.500

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.500

OBSERVATION III. — M. F... (23 avril).

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 2.500

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.500

OBSERVATION IV. — Même sujet (25 avril).

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 7.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.500

OBSERVATION V. — Même sujet (2 mai).

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 10.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.500

OBSERVATION VI. — Même sujet (9 mai).

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 8.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

OBSERVATION VII. — M. D... (26 avril).

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 7.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

L'étude des quelques faits précédents nous montre que chez le sujet normal, la quantité des leucocytes

donnant la réaction des peroxydases oscille entre 2 à 3.000 et 7 à 10.000 par millimètre cube, quand au contraire le nombre des leucocytes ne donnant pas de réaction peroxydasique gravite autour de 1.500 à 2.000. Comme dans le sang le nombre des polynucléaires par rapport aux mononucléaires est de 60 par rapport à 40 environ, c'est-à-dire de six dixièmes par rapport à quatre dixièmes, on voit que dans nos résultats le chiffre des éléments peroxydasiques se trouve un peu plus élevé que le chiffre des polynucléaires par rapport aux mononucléaires. Il faut donc admettre que certains mononucléaires peuvent donner la réaction peroxydasique, ou que l'absence de netteté des éléments non oxydants dans la chambre de l'hématimètre a pu les faire passer partiellement inaperçus. Dans l'état actuel de la question, il est impossible d'être fixé sur la raison de cette divergence entre les résultats fournis par notre technique et les résultats fournis par l'étude du pourcentage leucocytaire.

C'est pourquoi, dans les études qui vont suivre, nous n'avons pas tenu compte de l'équilibre leucocytaire, cherchant à nous faire une opinion sur la valeur exacte de la technique que nous avions en mains.

2° Affections chroniques.

Observation I (11 avril). — Jeune fille de dix-huit ans atteinte de maladie de Basedow :

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique.	2.800
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction.	N

Observation II (17 avril). — Sclérose pulmonaire. — Asystolie. — Cyanose.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 6.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 3.000

Observation III (19 avril). — Ulcus gastrique.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 5.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. . . . .

Observation IV. (12 mai). — Ulcus chez une lithiasique :

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 3.500

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.000

Observation V (5 mai). — Cholécystite lithiasique chronique sans fièvre.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 7.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.000

Observation VI (25 avril). — Tabes avec hémorragie méningée.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 11.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.000

Observation VII (26 avril). — Tabes et morphinomanie.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 5.500

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.000

Observation VIII (6 mai). — Polynévrite alcoolique.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 3.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

Observation IX (30 avril). — Syphilis secondaire. — Plaques et roséole.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 5.200

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.100

Observation X (22 mai). — Sclérose artérielle. — Cachexie.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique 2.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.000

Observation XI. (14 avril). — Pneumothorax tuberculeux avec péritonite.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique 15.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. . . . . N

Observation XII (16 avril). — Tuberculose pulmonaire au 3e degré, avec anémie et maladie d'Addison.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique 10.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

Observation XIII (29 avril). — Pleuropéritonite bacillaire.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique 3.250
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.500

Nous avons rangé sous le type d'affections chroniques différents malades dont les diagnostics cliniques sont d'ailleurs peu comparables. En règle générale, nous voyons l'indice peroxydasique ne pas dépasser 7.000. Il monte à 11.000 chez une femme atteinte de tabes, compliqué accidentellement d'hémorragie méningée en évolution. Or, on sait que l'hémorragie méningée provoque comme toute hémorragie interne une leucocytose passagère de même qu'elle se traduit par une légère poussée fébrile. Ce fait doit être distingué des autres affections chroniques, puisque en somme il s'agit d'un incident aigu au cours d'une infection chronique.

Pour les autres malades, l'indice peroxydasique se rapproche notablement de l'état normal, avec des variations légères qu'il est impossible d'attribuer à la cause pathologique.

3° Anémies.

OBSERVATION I (15 avril). — Anémie splénique, maladie de Banti.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 2.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.500

OBSERVATION II (2 mai). — Anémie splénique, maladie de Banti.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 2.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

OBSERVATION III (5 mai). — Anémie splénique, maladie de Banti.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 3.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. N

OBSERVATION IV (14 mai). — Anémie pernicieuse aplastique. Sujet mort le 22 mai.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 400

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 450

Note. — Voici les formules globulaires des anémies dont nous rapportons ci-dessus les indices peroxydasiques :

OBSERVATION I

Globules rouges : 2.310.000.
Hémoglobine : 20 (Gowers)
Valeur globulaire : 0,48.

Glob. blancs : 3.600.

Équilibre leucocytaire.
Polynucléaires : 64.
Lymphocytes : 12,5.
M. - mononucléaires : 10
G. - mononucléaires : 4,5.
Myélocytes : 2,5.
Eosinophiles : 1.
Mastzellen : 1.
Forme de transition : 1.

OBSERVATION II

Globules rouges : 3.330.000.
Hémoglobine : 25.
Valeur globulaire : 0,37.

Glob. blancs : 4.400.

Équil. leucoc.
Polynucléaires : 63.
Lymphocytes : 7.
M. - mononucléaires : 24.
G. - mononucléaires : 5.
Forme de transition : 1.

OBSERVATION III

Globules rouges : 3.050.000.
Hémoglobine : 22.
Valeur globulaire : 0,33.

Glob. blancs : 2.100.

Équilib. leucocytaire :
Polynucléaires : 65.
Lymphocytes : 5.
M. - mononucléaires : 25.
G. - mononucléaires : 5.
Eosinophiles : 3.
Mastzellen : 1.
Forme de transition : 1.

OBSERVATION IV

Globules rouges : 527.500.
Hémoglobine : 12,5.
Valeur globulaire : 0,84.
Hématoblastes : 8.

Glob. blancs : 850.

Équilibre leucocytaire :
Lymphocytes : 40,5.
M. - mononucléaires : 8.
G. - mononucléaires : 10.
Polynucléaires neutrophiles : 14.
P. myélocytes : 1.
Polynucléaires soudanophiles : 1.
Eosinophiles : 2.
Mastzellen : 24.

Parmi les quelques observations d'anémies que nous avons prises, nous retrouvons un indice peroxydasique très peu élevé ou approximativement normal. Ce fait n'est pas sans intérêt et semble démontrer, du moins dans les faits que nous avons observés, que l'insuffisance globulaire rouge n'est pas compensée par une réaction peroxydasique blanche. Nous insisterons cependant sur la formule extraordinaire de l'anémie pernicieuse aplastique, rapidement mortelle, dans laquelle nous avons été étonnés de trouver une absence totale de réaction avec anémie blanche poussée au point qu'il n'existait plus que 400 éléments peroxydants par millimètre cube.

4° Affections aiguës.

Observation I (14 avril). — Erythème noueux chez un vieillard de quatre-vingt-huit ans.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 12.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 7.000

Observation II (19 avril). — Myocardite syphilitique. — Fièvre de nature indéterminée.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 10.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

Observation III (22 avril). — Typhoïde adynamique en période fébrile.
Nombre des globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 1.600
Nombre des globules blancs ne donnant pas la réaction. 3.300

Observation IV (22 avril). — Infection aiguë suspecte de typhoïde.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 2.500
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.500

Observation V (26 avril). — Fièvre typhoïde à défervescence. Même sujet que l'observation III.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 2.500
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 3.000

Observation VI (23 avril). — Convalescence d'infection intestinale.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 12.500
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction, ... 2.000

Observation VII (26 avril). — Fièvre typhoïde en période de convalescence.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 7.600
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 4.000

Observation VIII (27 avril). — Fièvre typhoïde à la période de défervescence. Même sujet que les observations III et V.
Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 3.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.000

Observation IX (27 avril). — Fièvre typhoïde en période fébrile chez une malade atteinte de maladie de Basedow. Le sang de ce sujet avait été examiné avant sa fièvre typhoïde

et sa formule est rapportée à l'observation I des « Affections chroniques ».

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 9.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 4.000

Observation X (30 avril). — Typhoïde chez une basedowienne. Période fébrile. Même sujet que l'observation précédente.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 17.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

Observation XI (26 avril). — Pleurésie sérofibrineuse.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 5.500
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

Observation XII (27 avril). — Phlébite double des membres inférieures, consécutive à des blessures de guerre, en voie d'amélioration.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 18.000
Nombre de logbules blancs ne donnant pas la réaction. 4.000

Observation XIII (8 mai). — Méningite à pneumocoques. Malade morte le 9 mai.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 21.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

Observation XIV (9 mai). — Paludisme. Sujet ayant eu une crise la veille.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 9.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.000

Observation XV (9 mai). — Endocardite végétante rhumatismale.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 11.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

Si dans cette liste on supprime de parti pris les affections aiguës à la convalescence où la formule se rapproche à peu près de l'état normal, on voit que les infections aiguës se divisent en deux groupes :

1° Les fièvres typhoïdes, où le nombre des éléments peroxydants est toujours assez bas, au-dessous de 5.000. Réserve cependant à faire pour une fièvre typhoïde très spéciale, survenue chez une basedowienne, leucopénique, et à indice peroxydasique bas avant sa fièvre typhoïde. Cette fièvre typhoïde ne fut pas compliquée, mais il nous semble que le terrain basedowien suffit dans une certaine mesure à expliquer cette anomalie qu'il serait utile de rechercher chez d'autres leucopéniques faisant une fièvre typhoïde.

2° Dans les autres infections aiguës le nombre des éléments peroxydasiques est toujours élevé, en rapport avec l'intensité de la réaction infectieuse aiguë qu'ils présentent. C'est ainsi qu'une méningite à pneumocoques rapidement mortelle d'ailleurs avait 21.000 éléments peroxydasiques, une endocardite végétante 11.000 et une pleurésie sérofibrineuse beaucoup plus bénigne dans ses réactions seulement 5.500. Mais déjà nous voyons ce fait intéressant, c'est que dans les grandes nfections aiguës, la proportion relative des éléments peroxydants augmente. Elle est de 10 pour 1 dans la méningite à pneumocoques environ, de 5 pour 1 dans l'endocardite végétante et de 2 pour 1 dans la pleurésie sérofibrineuse. On observe donc à ce point de vue une évolution parallèle et comparable à ce que l'on constate lorsque l'on étudie la proportion relative totale des polynucléaires et des mononucléaires.

5° Suppurations aiguës.

Observation I (11 avril). — Abcès de la jambe chez une typhique convalescente, mais encore fébrile.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 24.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. . . . . N

Observation II (27 avril). — Abcès de la cuisse bien drainé, chez une typhique apyrétique.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 9.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 5.000

Observation III (11 avril). — Abcès du pied non ouvert, chez une tabétique.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 17.500

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. . . . . N

Observation IV (27 avril). — Abcès de la face interne de la cuisse gauche.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 8.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 3.000

Observation V (8 mai). — Plaie suppurante du pied. Wasserman positif.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 8.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 3.000

Observation VI (8 mai). — Plaie suppurante du pied. Wasserman douteux.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 8.000

Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

OBSERVATION VII (8 mai). — Ostéite du fémur, consécutive à une blessure de guerre.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 11.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 2.000

OBSERVATION VIII (8 mai). — Coxalgie. Résection de la hanche. Suppuration.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 17.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 3.000

OBSERVATION IX (20 mai). — Panaris du pouce. Suppuration déjà ancienne, bien drainée et tendant à la guérison.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 6.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 3.000

OBSERVATION X (29 avril). — Bronchectasie. Expectoration abondante.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 12.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. 1.000

Dans les suppurations aiguës, la distinction précédemment faite s'est encore accusée. Les suppurations bien drainées ont des indices peroxydasiques peu élevés. Par contre, les suppurations à drainage imparfait ont des indices qui oscillent entre 12.000 et 20.000.

6° **Néoplasmes.**

OBSERVATION I (12 avril). — Ictère cancéreux.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique. 9.300
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction. . . . . N

Observation II (14 avril). — Néoplasme œsophagien. Gastrotomie.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique	25.500
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction	N

Observation III (2 mai). — Néoplasme de l'utérus.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique	20.500
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction	3.500

Observation IV (5 mai). — Ictère par néoplasme secondaire du foie. Même sujet que l'observation I.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique	13.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction	2.000

Observation V (20 mai). — Néoplasme de la vessie. Mort le 21 mai.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique nette	6.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction ou ne donnant qu'une réaction très faible	22.000

Observation VI (22 mai). — Lymphosarcome du cou.

Nombre de globules blancs donnant la réaction peroxydasique	3.000
Nombre de globules blancs ne donnant pas la réaction	7.000

Chez les cancéreux, parmi lesquels nous avons rangé par extension un lymphosarcome dont seul l'indice peroxydasique n'est pas trop éloigné de la normale, et un néoplasme de la vessie à la période terminale qui d'une façon anormale a présenté un petit indice peroxydasique comparable à la grande quantité des éléments à réaction négative, la majorité des cancers a un indice peroxydasique presque aussi élevé que ce que l'on observe dans les suppurations aiguës. Cette leucocytose avec

peroxydase peut être envisagée comme une traduction d'inflammation aiguë surajoutée au cancer, ou bien comme la traduction du processus cancéreux lui-même. Le problème se pose à ce sujet de la même façon que pour apprécier le caractère ou l'évolution de la leucocytose.

VI. — APPRÉCIATION DES RÉSULTATS

1° Rapport avec la formule leucocytaire.

Nous avons vu grâce aux travaux faits sur les lames de sang desséché que les réactions microchimiques à la benzidine étaient spéciales aux leucocytes de la série médullaire, et en particulier aux polynucléaires du sang normal. Fishel a cependant signalé que certains lymphocytes peuvent contenir des grains colorés. Nous-mêmes avons remarqué que lorsque la réaction microchimique sur lame est prolongée au delà de six à sept minutes elle peut mettre en évidence dans certains mononucléaires des grains colorés en bleu par la benzidine. Il est possible à notre avis que certains leucocytes mononucléaires puissent donner une réaction de peroxydase. De même il est possible que certains polynucléaires frappés de dégénérescence graisseuse à grains soudanophiles, puissent ne pas donner de réactions de peroxydase. Dans ce cas, la dégénérescence morphologique s'accompagne d'une insuffisance fonctionnelle. C'est dire qu'il ne peut y avoir d'équivalence absolue entre les chiffres d'éléments peroxydants et les chiffres des polynucléaires au millimètre cube. Nous avons déjà signalé le fait à plusieurs reprises.

2° Rapport avec les processus d'oxydation.

Le problème devient beaucoup plus complexe quand on cherche à comprendre quelle peut-être la signification théorique de ces réactions peroxydantes. Pourquoi, sous l'effet de certaines causes infectieuses ou toxiques le nombre des polynucléaires et des éléments peroxydants s'élève-t-il? constitue un problème dont on n'a encore que les données, et dont on est loin de connaître la solution. Ce que l'on saisit ce sont différents chaînons des phénomènes que l'on s'efforce encore de relier entre eux. Ainsi on ne peut s'empêcher d'être frappé de l'augmentation de l'indice peroxydasique au cours des infections aiguës qui s'accompagnent de décharges uratiques. Et sans discuter d'ailleurs l'importance des réactions tissulaires, des réactions parenchymateuses telles que la réaction hépatique, nous signalerons que l'élimination uratique est la conséquence d'un double acte d'oxydation des purines, et qu'il est naturel de faire jouer dans ce processus d'oxydation un rôle important à des cellules qui sont, comme nous venons de le voir, des productrices extrêmement actives d'oxydases et de peroxydases.

Il est une preuve qui démontre cette hypothèse, à notre avis, c'est la très grande abondance de l'acide urique éliminée au cours des leucémies. On a signalé ainsi des éliminations de 8 grammes 7 d'acide urique par vingt-quatre heures, sur un chiffre total de 28 grammes 7 d'azote. (Magnus-Lévy.)

Le professeur Robin a d'ailleurs écrit dans ses ferments métalliques, en 1907 (page 85) : « Les leucocytes sont, comme on le sait pertinemment, des vecteurs de ferments solubles, et ces ferments mis en liberté par la

leucolyse, manifestent leurs effets dans l'organisme, en agissant comme hydratants oxydo-réducteurs. Ces ferments sont les metteurs en train des actes qui aboutissent à la formation de l'urée et de l'acide urique. »

Pour ce qui est de l'urée, l'opinion du professeur Robin semblait discutable d'après les recherches les plus modernes. On admettait que les réactions qui conduisent des protéiques à l'urée implique : 1° une hydrolyse qui scinde le protéique en ses acides aminés constituants ; 2° une désamination qui par hydrolyse sépare sous la forme d'ammoniaque le groupe $Az\,H^2$ de ses acides ; 3° une combinaison synthétique de cet ammoniaque avec l'acide carbonique, sous la forme de carbonate d'ammonium que la déshydratation transforme ensuite en urée.

Les phénomènes d'oxydation n'auraient donc qu'un rôle tout à fait secondaire, celui de fournir l'acide carbonique nécessaire à la formation du carbonate d'ammonium (Lambling).

Cependant on a pu obtenir de l'urée en oxydant des acides aminés en présence de l'ammoniaque. Et les recherches modernes de Fosse ont montré que les hydrates de carbone possèdent la faculté d'engendrer l'urée par oxydation en milieu ammoniacal. (Compte rendu de la Société de Biologie du 10 mai 1919 : oxydation simultanée du sang et du glucose.) Cet auteur a même prouvé que l'aptitude du glucose à produire de l'urée s'observe lorsqu'on provoque son oxydation en présence d'albumine simple, et que « le rendement en urée formée par oxydation du sang additionné de glucose s'accroît dans certaines limites avec la proportion de glucose et d'oxygène consommée. »

Cette petite digression chimique qui n'est qu'un tout petit point se rapportant au rôle des oxydases, suffit à montrer le rôle considérable que l'on doit leur faire jouer

dans la biologie médicale. Et nous ne parlons pas du rôle des oxydases leucocytaires dans la lutte contre les poisons, les toxines et les microbes.

3° Rapport avec le pronostic.

Il serait enfantin de soutenir que lorsque la réaction peroxydante est élevée le pronostic va être bénin. C'est qu'en effet quand on tient compte d'un processus de défense, il faut toujours faire intervenir l'intensité de l'agression, et que le pronostic n'est en somme que la résultante d'une équation où interviennent la résistance du terrain et l'activité de l'agent pathogène. Cette notion qui forme d'ailleurs la base de la Médecine a été à ce point oubliée que récemment on a publié toute une série de travaux sur ce que l'on a appelé « les Résultantes polynucléosiques et les Résultantes mononucléosiques ». Nous ne suivrons pas les auteurs qui ont calculé ces résultats en soustrayant au chiffre total des leucocytes le chiffre normal et en édifiant leur pronostic sur l'élévation de cette résultante : plus elle est élevée, plus le pronostic serait bénin. Cet édifice est d'ailleurs si fragile que lorsque les auteurs étudient la fièvre typhoïde, où il existe une leucopénie à mononucléaires, ils n'interrogent que les mononucléaires sous le prétexte que la fièvre typhoïde est une maladie de l'appareil lymphoïde !

On ne peut et on ne doit faire jouer à une leucocytose un rôle pronostic, que lorsqu'on sait quelle est la cause, son intensité, son traitement, et son évolution. C'est ainsi que sans tenir compte de notre réaction peroxydasique, mais simplement de la réaction leucocytaire, les cas les plus favorables que nous aurions observés

seraient la méningite à pneumocoques qui est morte le lendemain, et le cancer du foie avec ictère ! Nous ne ferons pas jouer du tout de rôle pronostic à notre indice peroxydasique parce qu'à ce sujet l'on n'observe aucune loi, et qu'il peut être élevé malgré la mort prochaine dans tel ou tel cas, tandis que dans tel autre (cancer de la vessie, anémie pernicieuse aplastique), il est bas dans les mêmes conditions.

———

VII. — CONCLUSIONS

En terminant, nous tâcherons de résumer en quelques mots l'état actuel de nos connaissances au sujet des peroxydases leucocytaires.

1° On a mis en évidence la présence des peroxydases dans tous les globules blancs du sang, mais beaucoup plus rarement dans les lymphocytes que dans les polynucléaires.

2° L'activité peroxydante des globules blancs varie dans des proportions considérables suivant l'état de santé des sujets, à peu près comme varient d'ailleurs la polynucléose et la lymphocytose du sang, et cette activité est vraisemblablement en rapport avec la vitalité des globules.

3° Le rôle de ces ferments est encore mal élucidé. Nous pensons qu'ils participent d'une façon importante aux processus d'oxydation, et qu'ils interviennent dans la lutte contre les toxines et contre les microbes, mais il n'est pas possible avec les données actuelles, d'attribuer à leur présence et à leur activité une valeur pronostique précise.

La méthode hématimétrique que nous avons appliquée à l'étude des peroxydases des globules blancs apportera peut-être, si l'on multiplie les observations, plus de clarté à cet égard. Elle permet de déterminer le nombre des éléments donnant la réaction positive, et fournit ainsi des résultats quantitatifs, tandis que les

méthodes microchimiques précédentes n'apportaient que des indications qualitatives vagues.

Il faudrait enfin, pour avoir en mains toutes les données du problème, pouvoir déterminer non seulement la simple numération des leucocytes présentant des peroxydases ou n'en présentant pas, mais également la grandeur variable de l'activité de ces ferments dans chaque globule, suivant les conditions morbides différentes des sujets examinés. Et cela exigerait des méthodes infiniment délicates..., méthodes que nous ne possédons pas à l'heure actuelle.

Juin 1919.

Vu, le Président de Thèse,
ALBERT ROBIN

Vu, le Doyen,
ROGER

Vu et permis d'imprimer.
Le vice-recteur de l'Académie de Paris,
L. POINCARÉ

BIBLIOGRAPHIE

G. S. Graham. — *The Journal of Medical research*, septembre 1918 : « Benzidine as a peroxydase reagent for blood smears and tissues. »

Professeur Rubino (Gênes). — *Riforma Medica*, 1915 : « Alcuni caratteri morphologici, strutturali, e funzionali degli elementi figurati del sangue rilevati mediante una reazione cromogena.

Noel Fiessinger et Rowdowska. — *Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologiqne*, t. XXIV, nº 5, de septembre 1912.

Thèse Rowdowska, 1914, Paris. *Contribution à l'Etude des ferments leucocytaires. Les oxydases et les protéases leucocytaires chez l'homme.*

Byla et Delaunay. — *Les Produits biologiques médicinaux*, 1912.

Lambling. — *Biochimie.*

Professeur Albert Robin. — *Les Ferments métalliques et leur emploi en thérapeutique*, 1907.

Paris. — Imp. L. Pochy, 52, rue du Château. — 489-19.

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MEDECINE